〔ノ ー ト〕

骨部分置換用ポーラスチタン-ポリグリコール酸-炭酸カルシウム複合体の開発

上田 正人*¹・池田 勝彦*¹・土井 研児*²・森 重雄*²
北垣 壽*²・寺内 俊太郎*²・関 あずさ*³

(受付 2017 年 8 月 28 日・審査終了 2017 年 10 月 18 日)

(早期公開 2017 年 11 月 29 日・DOI:10.1295/koron.2017-0056)

1 結 言

金属材料は、優れた機械的性質を有するため、整形外科、循環器外科・内科、歯科などにおいて、力学的な強度や延性、信頼性が要求される部位に広く利用されている。硬組織関連デバイスである、骨部分置換材、骨プレート、人工股関節ステムなどでは、骨とその金属材料におけるヤング率の差が深刻な問題をひき起こす。皮質骨のヤング率は10–30 GPaであるのに対し、金属材料の中で比較的低いヤング率を示す純チタンでも110 GPa程度である。このヤング率のミスマッチにより、金属製インプラント周囲の骨への力学的な刺激が不足し、骨の萎縮を誘発する¹⁾。

金属材料の力学特性は、合金設計^{2)~4)}や構造設

計^{5)~8)}によって制御することが可能である。後者において、適当な空隙を有するポーラス体は、緻密体に比べて低いヤング率を示す他、骨との一体化をめざしたインプラントでは、骨のイングロースによる機械的嵌合も期待できるため理想的なデバイスとなり得る⁹⁾。しかしながら、埋入したポーラス体の空隙部に骨が充填されると、そのヤング率は上昇してしまう。完全治癒後、つまり、ポーラス体の空隙部に骨が充填された状態で、周囲の骨と同等の力学特性を示すように、ポーラス体を設計すると、埋入時の初期の力学特性は骨のそれに比べ著しく低くなってしまふ。そこで、そのポーラス体の空隙部に生分解性物質を充填することによって、初期の力学特性を改善し、さらに、その生分解性物質と新生骨が逐次置換されることによって、埋入時から完全治癒後まで、力学特性が一定に保たれると考えた。

ポリグリコール酸 (Polyglycolide, PGA) は、融点が493–503 Kの生分解性熱可塑プラスチックのひとつである。PGAは、プラスチックの中では比較的高いヤング率を示し、生体為害性がなく、代謝によって体外に排出される。現在、医療分野では、吸収性縫合糸として利用されている。その他、ドラッグデリバリーのキャリア、生分解性インプラントとしての利用も盛んに研究されていた^{10)~23)}。しかしながら、その分解は、分子量などにも強く依存するが、ポリ乳酸より速いため、早期の完全治癒を狙う硬組織関連デバイスに使用する材料としては非常に魅力的である。ただし、その周囲のpHが急激に低下してしまう²⁴⁾ことに注意を払う必要がある。一方、炭酸カルシウム (CaCO₃) は、生分解性セラミックスのひとつであり²⁵⁾、水に溶解すると弱塩基性を示す。PGAとこのCaCO₃の複合化は、分解過程におけるpH制御の観点から非常に興味深い。

硬組織代替材料としては、力学特性、各種生体適合性の観点から、チタン・チタン合金が有力である。筆者らは、骨部分置換材の骨格として、純チタン焼結体に注目

*¹ 関西大学化学生命工学部 (☎ 564-8680 吹田市山手町3-35)

*² 大阪冶金興業 (株) (☎ 533-0005 大阪市東淀川区瑞光4-4-28)

*³ ハムリー (株) (☎ 306-0101 古河市尾崎2654-3 筑波研究センター)

し、さまざまな研究を行ってきた。本課題に関連して、これまで、ポーラスチタン (pTi) の空隙部に PGA を充填する方法として、遠心充填法など、いくつかの方法とその得られた力学特性について検討してきた²⁶⁾。その結果、加熱・加圧充填法で高い充填率が得られ、圧縮強度を著しく向上させることが可能であることがわかった²⁶⁾。

そこで本研究では、加熱・加圧充填法で pTi 空隙部に PGA、ならびに CaCO₃ を添加した PGA を充填し、複合体の力学特性を調べるとともにその分解特性を調査した。

2 実 験

2.1 材料

純チタン粉末 (ASTM grade 2, 平均粒子径: <45 μm, ガスアトマイズ法) とスペースホルダーとしての炭酸水素アンモニウム粉末の混合物を圧粉し、アルゴン雰囲気中、1673 K・7.2 ks の熱処理を施すことで、pTi を得た。生体骨のイングロースに必要な空隙サイズは 50 μm 以上であり、さらに 50% 未満の空隙率で独立した空隙が増加することが報告されている^{27),28)}。そこで、本研究では、すべての空隙が連結するよう、空隙率を 60% となるよう調整した。この pTi から、放電加工によって、円柱状 (Φ2 or 3 mm×5 mm) の試料を切り出した。アルゴン雰囲気中で 1273 K・3.6 ks の熱処理を施し、表面の酸化層を除去した。そして、化学・水熱複合処理^{29),30)} によって、表面にアナターゼ型 TiO₂ 膜を合成した。この膜上では、骨伝導が顕著に促進されることがわかっている³¹⁾。

PGA は、いくつかの方法で合成可能であるが、本研究では、下記に示すクロロ酢酸ナトリウム (ClCH₂COONa) の縮合重合反応によって合成した。

具体的にはクロロ酢酸ナトリウム (98%, Sigma Aldrich 社製, 型番 291773) を減圧雰囲気下、433 K で 72 ks (20 h) 保持した。生成した NaCl を蒸留水で洗浄した後、減圧雰囲気下、353 K で乾燥し、PGA 粉末 (粒子サイズ: 20–100 μm) を得た。

CaCO₃ は、市販されている粉末 (99.5%, 和光純薬工業 (株) 製, 型番 030-00385, 平均粒子径: 5 μm, カルサイト) を用いた。一般的に CaCO₃ は水に難溶であることが知られているが、この粉末を蒸留水に分散するとわずかに溶解し、pH は 9.5 以上に速やかに上昇することを確認している。

2.2 複合体の作製

示差走査熱量計 (DSC) で PGA, PGA-*x*mass% CaCO₃ 混合粉末 (*x*=10~50) の熱分析を行い、求めた融点を参考に、加熱・加圧充填法における加熱温度を決定した。

pTi と充填材をステンレス鋼 (SUS304) 製のダイスに入れ、高周波加熱によって、483–508 K まで 0.167 K/s (10 K/min) で昇温し、PGA を融解した。2 MPa で 300 s 加圧することで、PGA, PGA-CaCO₃ を pTi 空隙部に充填した。なお、この操作は、PGA の酸化を抑制するため、減圧雰囲気下で行った。

3 結果と考察

3.1 ポーラスチタン-ポリグリコール酸複合体

pTi のコンピュータ断層撮影 (CT) 像と pTi-PGA 複合体における断面の光学顕微鏡像を Figure 1 に示す。空隙のサイズ、分布は非常に均一であることがわかる (Figure 1(a))。さらに、詳細な画像解析により、そのほとんどの空隙は連結していることが確かめられた。また、今回の加熱・加圧充填法によって、PGA は、pTi 空隙部に中心部まで非常に均一に充填され、その充填率は、約 90% に達した (Figure 1(b))。

pTi, および pTi-PGA 複合体 (Φ3 mm×5 mm) の圧縮試験を初期ひずみ速度 $1.67 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ で行った。応力-ひずみ曲線から、降伏応力 (0.2% 耐力), ならびにヤング率を求めた。pTi では、降伏応力が 40 MPa, ヤング率が 4.0 GPa であった。降伏応力は、pTi を Ti と空隙の複合体と捉えた複合則に則った値を示したが、ヤング率は計算値より著しく低い値を示した。焼結法や積層造形法によって作製した低気孔率のバルク体においても、同様の傾向が観察されることから、粒子連結部の形状・組織なども深くかかわっていると考えられ、そのメカニズムは現在調査中である。

Figure 1. (Color online) (a) Computed tomography (CT) image of porous Ti and (b) cross-sectional image of porous Ti-polyglycolide composite prepared by a heat injection method at 483 K.

Figure 2. (Color online) Light microscopy histological sections in (a) porous Ti after 4 weeks of implantation, (b) porous Ti and (c) porous Ti-PGA composite after 12 weeks of implantation stained with Villanueva-Goldner stain. Green, purplish-red, and black regions correspond to calcified bone, osteoid, and Ti, respectively.

pTiにPGAを複合化すると、降伏応力は約90 MPaまで著しく増加したが、ヤング率の増加はわずかであった。一般的に、ポーラス体の力学特性は、粒子の連結部分やネッキング部など、空隙の割合が大きく、構造的に弱い部分に支配される。PGAは、そのような部分に優先的に充填される。さらに、充填されたPGAは、塑性変形中、周囲のチタン部に拘束された状態となるので、充填物質の強度がそれほど高くなくても、複合体の強度上昇には効果的に寄与すると思われる。それに対して、小さな変形量である弾性変形域では、ヤング率は単純に複合則に従うと考えられる。つまり、充填材の物性がそのまま複合体のそれに反映される。高分子の中で、PGAは比較的高いヤング率を示すが、今回合成したPGAを溶融凝固したものでは1.6 GPaであり、pTiのそれが4.0 GPaであることを考慮すると、その結果は妥当である。

pTi、およびpTi-PGA複合体(Ø2 mm×5 mm)を7週齢のSD系(Crl:CD) IGSラット脛骨に埋入した。埋入部において、出血や炎症など、異常な剖検所見は確認されなかった。Villanueva goldner染色を施した4週後と12週後の骨組織をFigure 2に示す。この染色では、類骨が赤紫色、石灰化骨が緑色で観察される。埋入4週後には、pTi空隙部に骨組織が全体的に侵入し、すべての空隙が連結していることがわかる(Figure 2(a))。pTiでは、皮質骨に接触するpTi空隙部分に石灰化骨が旺盛にイングロースしていた。骨髓腔部においても、pTi空隙部に骨組織が侵入し、その表面では類骨の形成も認められ

た。それに対して、pTi-PGA複合体では、充填したPGAは、完全に分解されているにも拘らず、pTi空隙部への骨組織の侵入はまったく認められなかった。さらに、そのインプラントは線維性組織に覆われ、生体組織から隔離されていた。これは、PGAの分解によって、周囲のpHが低下し、細胞の侵入が阻止されたためと考えられる。この結果は、PGAの分解速度やpH低下の適切な制御が必要不可欠であることを示唆している。

3.2 炭酸カルシウムの添加

PGA-CaCO₃混合粉末における昇温過程の熱分析を行ったところ、PGAの融解に伴う吸熱ピークは、CaCO₃添加量の増加に伴って高温側にシフトした。CaCO₃との接触によりPGAの結晶化が促進されたことに起因すると考えている。そこで、加熱・加圧充填法における加熱温度を508 Kとした。

pTi空隙部にPGA-CaCO₃を充填した複合体の降伏応力、ヤング率をFigure 3に示す。降伏応力は、PGAのみの充填では、約90 MPaであったが、そのPGAに対して10%のCaCO₃を添加する($x=10$)と、降伏応力は、さらに増加し、160 MPaを超えた。それ以上の添加量においては、添加量の増加に伴って、降伏応力は微増し、 $x=50$ で約200 MPaとなった。PGAに対して、添加したCaCO₃粉末がフィラーとして働き、充填材の強度を底上げした結果である。PGA-CaCO₃充填材のみの降伏応力は、CaCO₃添加量に対して単調に上昇するが、pTiに複合化すると、 $x=10$ を境界に増加率が低下した。これは、上述したとおり、充填材の変形に対する周囲の拘束

Figure 3. Mechanical properties of porous Ti-PGA-CaCO₃ composites as a function of mass fraction of CaCO₃ to PGA.

の効果も重畳していると考えている。この強化メカニズムは、引き続き検討する必要があるが、 $x=10$ 以上のCaCO₃添加で170 MPa以上の降伏応力が実現され、皮質骨のそれを大きく上回った。一方、ヤング率は、PGAのみの充填では、微増であったが、CaCO₃の添加に伴って明瞭に増加する傾向が認められた。CaCO₃添加によるPGA-CaCO₃充填材のヤング率増加が、複合則的にpTi-PGA-CaCO₃複合体のヤング率増加に反映されたと推察している。たとえば、 $x=30$ では、PGA-CaCO₃充填材のヤング率が3 GPaであるので、複合則では、5.8 GPaと計算される。実測値は、若干低いが良い一致を示していると言える。

ClCH₂COONaの縮合重合反応によって合成したPGAの分子量は、約2300であり¹³⁾、その分解は比較的速いことが予想される。実際に、このPGAを充填した複合体では、埋入12週後においても、pTi空隙に骨組織の侵入が認められなかった。PGAの急速な分解に伴うpH低下が、その主因であると考えている。本研究で狙っているデバイスを構築するには、PGAの分解挙動を適切に制御する必要がある。一般的には、分子量、結晶性の制御、塩基性物質の複合化などが効果的とされている^{32)~36)}。今回の手法は、塩基性物質の複合化に属する。

pTi-PGA-CaCO₃複合体(φ3 mm×5 mm)を蒸留水10 mLに浸漬し、310 Kで1~10 days保持した。PGA-CaCO₃充填材の重量変化、その初期重量を基準とした重量比率

Figure 4. Changes in weight, its ratio from origin in the incorporated PGA-CaCO₃ and pH of the solvent after soaking the composites in distilled water.

の変化と溶媒のpH変化をFigure 4に示す。pTi-PGA複合体($x=0$)では、蒸留水に1 day浸漬すると、充填材(PGA)の重量は約80%まで急激に減少した。その後は、10 daysで70%となるまで緩やかに減少した。空隙の形状により、溶媒に接触している部分、結晶性の低い部分などから優先的にPGAの分解が生じたため、このような傾向を示したと思われる。また、この分解に伴い、溶媒のpHは1 dayで約3まで急激に低下した。一方、CaCO₃を添加するとPGAの分解は加速された。たとえば、 $x=10\sim30$ では、1 dayの浸漬で重量は60%以下になるまで急激に減少した。PGAは、分解過程で生成するH⁺によって自己触媒的に分解が進行することも報告されている²⁴⁾。したがって、CaCO₃の添加によって、この自己触媒的な分解反応が抑制されることも期待したが、実際には、加水分解が進行し、加速的にPGAは分

解された。x=40, 50 では、重量減少が抑制されているかのようにも見えるが、pTi 空隙部に充填している PGA の総量が減少しているためであり、PGA の分解が抑制されたわけではない。一方、CaCO₃ 添加によって、pH の低下は効果的に抑制された。x=30 以上の CaCO₃ 添加で、pH は 6 以上を維持していた。pTi への充填材として x=30 以上の PGA-CaCO₃ を利用すれば、pTi 空隙部への骨の正常なイングロースを誘導できると考えられる。また、分解が遅い高分子量の PGA を併用・複合化することによって、充填材の分解速度を骨のイングロース速度に合わせたデバイスが実現できると期待している。

4 結 論

pTi の空隙部に PGA-CaCO₃ を充填すると、降伏応力、ヤング率は上昇した。これは、完全治癒後を基準として、ポーラス体を設計した場合においても、この複合化によって、埋入時に十分な初期強度・ヤング率を与えることができることを意味している。また、PGA に対して、30 mass% 以上の CaCO₃ を添加することにより、充填材の分解に伴って変動する pH を 6~7 に保持できることが示された。これらの結果は、生分解性物質と新生骨が逐次置換され、埋入時から完全治癒後まで、力学特性が一定に保たれるような骨部分置換材の開発に繋がると考えている。

謝 辞 本研究の一部は、H25 年度地域産業支援強化事業補助金を受けて行ったものである。

文 献

- 1) N. Sumitomo, K. Noritake, T. Hattori, K. Morikawa, S. Niwa, K. Sato, and M. Niinomi, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, **19**, 1581 (2008).
- 2) M. Niinomi, M. Nakai, and J. Hieda, *Acta Biomater.*, **8**, 3888 (2012).
- 3) T. Ahmed, M. Long, J. Silvestri, C. Ruiz, and H. J. Rack, "in Titanium'95: Science and Technology", P. A. Blenkinsop, W. J. Evans, and H. M. Flower eds., The Institute for Materials, Birmingham, UK, 1760 (1996).
- 4) D. Kuroda, M. Niinomi, M. Morinaga, Y. Kato, and T. Yashiro, *Mater. Sci. Eng., A*, **243**, 244 (1998).
- 5) N. Nomura, T. Kohama, I. H. Oh, S. Hanada, A. Chiba, M. Kanehira, and K. Sasaki, *Mater. Sci. Eng., C*, **25**, 330 (2005).
- 6) C. E. Wen, M. Mabuchi, Y. Yamada, K. Shimojima, Y. Chino, and T. Asahina, *Scr. Mater.*, **45**, 1147 (2001).
- 7) I.-H. Oh, N. Nomura, and S. Hanada, *Mater. Trans.*, **43**, 443 (2002).
- 8) H. Li, S. M. Oppenheimer, S. I. Stupp, D. C. Dunand, and L. C. Brinson, *Mater. Trans.*, **45**, 1124 (2004).
- 9) M. Takemoto, S. Fujibayashi, M. Neo, J. Suzuki, T. Kokubo, and T. Nakamura, *Biomaterials*, **26**, 6014 (2005).
- 10) J. Braunecker, M. Baba, G. E. Milroy, and R. E. Cameron, *Int. J. Pharm.*, **282**, 19 (2004).
- 11) O. Herzberg, R. Gehrke, and M. Eppele, *Polymer*, **40**, 507 (1999).
- 12) M. Eppele and O. Herzberg, *J. Mater. Chem.*, **7**, 1037 (1997).
- 13) K. Schwarz and M. Eppele, *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 2221 (1999).
- 14) M. Eppele and H. Kirschnick, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **129**, 1123 (1996).
- 15) M. Eppele and O. Herzberg, *J. Biomed. Mater. Res., Part B*, **43**, 83 (1998).
- 16) M. Eppele and L. Tröger, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **11** (1996).
- 17) A. L. C. Lagoa, H. P. Diogo, M. E. M. Piedade, K. Schwarz, and M. Eppele, *J. Phys. Chem. B*, **106**, 10764 (2002).
- 18) L. Elizabé, B. M. Kariuki, K. D. M. Harris, M. Tremayne, M. Eppele, and J. M. Thomas, *J. Phys. Chem. B*, **101**, 8827 (1997).
- 19) K. D. M. Harris and E. Y. Cheung, *Chem. Soc. Rev.*, **33**, 526 (2004).
- 20) H. K. Pihlajamäki, S. T. Salminen, O. Tyninen, O. M. Böstman, and O. Laitinen, *Calcif. Tissue Int.*, **87**, 90 (2010).
- 21) L. Wang, N. H. Dormer, L. F. Bonewald, and M. S. Detamore, *Tissue Eng. Part A*, **16**, 1937 (2010).
- 22) T. Ohara, T. Itaya, K. Usami, Y. Ando, H. Sakurai, M. J. Honda, M. Ueda, and H. Kagami, *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, **94A**, 800 (2010).
- 23) L. Tian, M. P. Prabhakaran, and S. Ramakrishna, *Regener. Biomater.*, **2**, 31 (2015).
- 24) R. E. Cameron and A. Kamvari-Moghaddam, "Degradation rate of Bioresorbable Polymers: Prediction and evaluation", F. J. Buchanan eds., Woodhead Publishing Ltd, (2008).
- 25) "バイオマテリアル—材料と生体の相互作用", 田中順三, 角田方衛, 立石哲也編, 内田老鶴圃, 東京 (2008) p. 98.
- 26) M. Ueda, N. Hayashi, Y. Nakano, M. Ikeda, K. Doi, S. Mori, H. Kitagaki, S. Terauchi, and A. Seki, *Mater. Trans.*, **57**, 2002 (2016).
- 27) B. Otsuki, M. Takemoto, S. Fujibayashi, M. Neo, T. Kokubo, and T. Nakamura, *Key Eng. Mater.*, **330-332**, 967 (2007).
- 28) 土井研児, 寺岡常雄, 北垣 壽, 花見和樹, 寺内俊太郎, 粉体および粉末冶金, **59**, 40 (2012).
- 29) M. Ueda, R. Matsunaga, M. Ikeda, and M. Ogawa, *Mater. Trans.*, **49**, 1706 (2008).
- 30) M. Ueda, M. Ikeda, and M. Ogawa, *Mater. Sci. Eng., C*, **29**, 994 (2009).
- 31) 上田正人, 池田勝彦, 日本骨形態計測学会誌, **23**, 45 (2013).
- 32) J. Liyun, X. Chengdong, J. Lixin, C. Dongliang, and L. Qing, *Mater. Res. Bull.*, **48**, 1233 (2013).
- 33) C. Migliaresi, A. D. Lollis, L. Fambri, and D. Cohn, *Clin. Mater.*, **8**, 111 (1991).
- 34) N. Fukuda, H. Tsuji, and Y. Ohnishi, *Polym. Degrad. Stab.*, **78**, 119 (2002).
- 35) M. Jayabalan, K. T. Shalumon, M. K. Mitha, K. Ganesan, and M. Eppele, *Acta Biomater.*, **6**, 763 (2010).
- 36) Y. S. Liu, Q. L. Huang, A. Kienzle, W. E. G. Müller, and Q. L. Feng, *Mater. Sci. Eng., C*, **38**, 227 (2014).

[Notes]

Fabrication of Porous Titanium-Polyglycolide-Calcium Carbonate Composite as Bone Replacement Material

Masato UEDA^{*1}, Masahiko IKEDA^{*1}, Kenji DOI^{*2}, Shigeo MORI^{*2}, Hisashi KITAGAKI^{*2}, Shuntaro TERAUCHI^{*2}, and Azusa SEKI^{*3}

^{*1}*Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, Kansai University (3-3-35 Yamate-cho, Suita 564-8680, Japan)*

^{*2}*Osaka Yakin Kogyo Co., Ltd. (4-4-28 Zuiko, Yodogawa-ku, Osaka 533-0005, Japan)*

^{*3}*Hamri Co., Ltd. (2638-2 Osaki, Koga 306-0101, Japan)*

Porous materials show low Young's moduli and excellent bonding to living bone. However, the strength of such materials is often insufficient in the initial stage of implantation. Thus, the objective of this study was to increase strength and Young's modulus of porous titanium by filling the pores with a biodegradable mixture of polyglycolide (PGA) and calcium carbonate (CaCO₃). The mixture was introduced into porous Ti (porosity: 60%) using a heat injection technique. When the pores were filled with PGA-CaCO₃, compressive strength and Young's moduli were drastically increased and influenced by the content of CaCO₃. In an animal test, unfavourable autopsy findings could not be confirmed in rats and no bone was observed in the pores of the Ti-PGA composite. Decomposition of PGA lowered the surrounding pH, it was found to inhibit bone formation in the pores. Addition of CaCO₃ to PGA could suppress the decrease in pH.

KEY WORDS Titanium / Porous Devices / Biodegradable Plastics / Biodegradable Ceramics / Bone Histology /

(Received August 28, 2017; Accepted October 18, 2017; Advance Publication November 29, 2017) [Kobunshi Ronbunshu, **75**, 69—74 (2018)]

©2018, The Society of Polymer Science, Japan